

1895
Lane Medical Library

Über

das Verhalten der Choleraspirillen im Wasser

bei Anwesenheit fäulnisfähiger Stoffe und
höherer Temperatur (37°).

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

vorgelegt

von

Carl Arens

aus Essen a. d. Ruhr.

Tag der mündlichen Prüfung: 6. März 1895.

ERLANGEN.

K. b. Hof- und Univ.-Buchdruckerei von Fr. Junge (Junge & Sohn),
1895.

Über
das Verhalten der Choleraspirillen
im Wasser
bei Anwesenheit fäulnisfähiger Stoffe und
höherer Temperatur (37°).

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

vorgelegt

von

Carl Arens

aus Essen a. d. Ruhr.

Tag der mündlichen Prüfung: 6. März 1895.

ERLANGEN.

K. b. Hof- und Univ.-Buchdruckerei von Fr. Junge (Junge & Sohn).
1895.

Gedruckt mit Genehmigung der hohen philosophischen
Fakultät zu Erlangen.

Referent: Prof. Dr. M. Reess.

Promotionsprüfung: 6. März 1895.

Meinem lieben Bruder

Herrn

Dr. med. Heinrich Arens

gewidmet.

Die Lehre von der Verbreitung der Cholera, welche durch die Epidemien der letzten Jahre ein ganz besonderes praktisches und wissenschaftliches Interesse gewonnen hat, ist in neuerer Zeit der Gegenstand einer grossen Zahl von wissenschaftlichen Arbeiten geworden.

Dass im allgemeinen bei Verbreitung einer Epidemie dem Trink- und Nutzwasser eine besondere Rolle zugesprochen wird, ist erklärlich, wenn man bedenkt, welche Mengen Wassers bei einigermaßen starker Bevölkerung der Städte in Anwendung kommen. Das Wasser wird benutzt zum Trinken, Kochen, zum Waschen von Körper, Geschirr und Wäsche, zur Reinigung der Closets, der Strassen etc.

Durch die grossen Fortschritte und ausgezeichneten Methoden der chemischen Analyse ist man jetzt im stande, auf das Genaueste die anorganischen Substanzen des Wassers der Qualität und Quantität nach zu bestimmen. Anders verhält es sich mit den organischen Stoffen; hier ist die qualitative Bestimmung sehr erschwert, ja meistens unmöglich und man vermag nur in quantitativer Hinsicht ein annäherndes Resultat zu erzielen. Wenn die Analyse gegenüber den organischen Substanzen und ihren möglicherweise giftig wirkenden Umsetzungsprodukten uns noch im Stiche lässt, so ist ein Trinkwasser doch schon dann zu beanstanden, wenn es diese Substanzen, deren Ursprung auf Dejectionen und Abwässer zurückzuführen ist, in gewissen Mengen enthält. Das Wasser muss aber direkt für die Verbreitung einer Infektionskrankheit verantwortlich gemacht werden,

wenn ausserdem noch die spezifischen Infektionsträger der betreffenden Krankheit in demselben nachgewiesen werden.

Seitdem die Wissenschaft die hohe Bedeutung mancher Bakterien als Krankheitsursache gezeigt, und man eingesehen hat, dass die Anwesenheit derselben in weit höherem Masse, als gewisse chemische Bestandteile des Wassers, die menschliche Gesundheit bedroht, ist der Bakteriologie eine wichtige Stellung in der Beurteilung eines Trinkwassers erwachsen. Gewiss dieselbe, wenn nicht höhere Berechtigung hat ihre Anwendung bei der Untersuchung eines mit Exkrementen und Fäulnisstoffen aller Art verunreinigten Wassers, das leicht pathogene, aus Dejectionen u. s. w. stammende Organismen mit sich führen, jedenfalls die Bakterienentwicklung in hohem Masse fördern kann. Die Zahl der in einem Wasser enthaltenen Bakterien an und für sich gibt uns schon einen wertvollen Aufschluss über seinen Zustand. Es sind somit die in einem bestimmten Wasserquantum vorkommenden Keime, namentlich bei Feststellung der verschiedenen Arten, ein Ausdruck seiner Verunreinigungen.

Choleraspirillen sind bis jetzt nur in vereinzeltsten Fällen im Wasser nachgewiesen worden. Dieselben kommen im allgemeinen im gewöhnlichen Wasser nicht gut weiter; sie werden von den Wasserbakterien bald überwuchert und unterdrückt, weil letztere besser bei gewöhnlicher Temperatur gedeihen, umgekehrt wie die Choleraspirillen, deren Wachstum am besten bei Brüttemperatur stattfindet. Dagegen ist sterilisiertes, keimfreies Wasser, und zwar Wasser jedweder Herkunft, ein Medium, in welchem sich die Choleraspirillen bis zu sieben Monaten erhalten und in dem sie sich nicht unbedeutend vermehren können.

Es liegt nun nahe, zu glauben, dass hohe Aussentemperatur, mithin die Jahreszeit, von Einfluss auf das Wachstum und die Vermehrung von Choleraspirillen sein muss und dass die Epidemie des Sommers durch die hohe

Temperatur begünstigt wird und deswegen so bedeutende Dimensionen erreicht hat.

Diese Erklärung lässt sich aber nicht aufrecht erhalten, wenn man berücksichtigt, dass im Winter 1893, dem die schwere Hamburger Sommerepidemie vorausging, und zwar in der kältesten Periode des Winters, die niedrige Temperatur nicht im stande war, in Nietleben bei Halle einen Choleraausbruch zu verhüten, welcher eine im Verhältnis zur Bevölkerungsziffer viel höhere Morbidität aufweist, als die Hamburger Sommerepidemie. Auch aus früheren Choleraepidemien sind anderweitige Vorkommnisse bekannt, welche beweisen, dass im Winter die heftigsten Ausbrüche gelegentlich entstehen können.

Verfolgt man den Verlauf der Choleraepidemie in Hamburg im Jahre 1892, so findet man die Thatsache, dass in der zweiten Hälfte des Monats August in Hamburg seit langen Jahren die höchste Lufttemperatur und die höchste Wassertemperatur herrschte. Ausserdem war zu derselben Zeit bei Hamburg der niedrigste Wasserstand, den die Elbe seit sehr vielen Jahren gehabt hat. Dadurch war das Wasser zur Vermehrung von Bakterien mehr als sonst geeignet, da dieselben im Wasser der Elbe und des Hafens die Schmutzstoffe in einer ungewöhnlich konzentrierten Form vorfanden.

In dem Bericht über die Choleraepidemie in Hamburg im Jahre 1892 (s. Berl. klin. Wochenschrift 1893 p. 110) sagt Hueppe im Anschluss hieran Folgendes:

„Beide Momente zusammen mußten vorübergehend auch empfindlicheren und selbst pathogenen Bakterien gestatten, sich zu erhalten und vielleicht sogar sich zu vermehren. Mindestens geht aus meinen früheren Versuchen hervor, dass unter solchen Bedingungen sich auch die Kommabazillen trotz der Gegenwart der gewöhnlichen Wasser- und Fäulnisbakterien viele Tage lebensfähig halten können“.

Die Vermutung, dass das Verhalten der Choleraspirillen ein anderes ist, war die Veranlassung zu folgender Arbeit, welche ich im pathologisch anatomischen Institut der Universität Erlangen ausführte.

Das Thema lautet: Über das Verhalten der Choleraspirillen im Wasser bei Anwesenheit fäulnisfähiger Stoffe und höherer Temperatur (37°).

Die Arbeit zerfällt in fünf Versuchsreihen:

- I. Feststellung der im Wasser vorkommenden Bakterien-Arten bei Normaltemperatur.
- II. Feststellung der im Wasser vorkommenden Bakterien-Arten bei höherer Temperatur (37°).
- III. Feststellung der im Wasser vorkommenden Bakterien-Arten bei Anwesenheit fäulnisfähiger Stoffe und höherer Temperatur (37°).
- IV. Verhalten der Choleraspirillen im Wasser bei höherer Temperatur (37°).
- V. Verhalten der Choleraspirillen im Wasser bei Anwesenheit fäulnisfähiger Stoffe und höherer Temperatur (37°).

Zu diesen Untersuchungen benutzte ich das Wasser der Schwabach, eines grösseren Baches, an dem die Stadt Erlangen gelegen ist.

Ich schöpfte dasselbe in mit Wattepfropf versehene Erlenmeyer'sche Kolben, die eine Stunde lang bei einer Temperatur von 160° — 170° sterilisiert waren und machte behufs Feststellung der im Schwabach-Wasser vorkommenden Bakterien-Arten bei Normaltemperatur Plattengüsse in Petri-Schalen; als Nährboden benutzte ich stets eine zehnprozentige Normalgelatine. Die Kulturen, in verschiedenen Verdünnungen angelegt, wurden bei einer Temperatur von 18° — 20° aufbewahrt.

Bereits nach zwei Tagen waren überall Keime aufgegangen, verflüssigende und nicht verflüssigende Arten an

der Oberfläche sowohl wie in der Tiefe. Bei makroskopischer Betrachtung der ersten Verdünnung, mit einem Tropfen Wasser angelegt, machte es den Eindruck, als wenn die verflüssigenden Arten die Oberhand hätten. Dieses ist, wie die späteren Resultate beweisen werden, eine Täuschung und dadurch zu erklären, dass die verflüssigenden Bakterien schnell wachsen und die weniger schnell wachsenden nicht verflüssigenden Arten während des Entstehens teilweise unterdrücken.

Die übrigen Kulturen, bei denen die Keime weniger dicht und isoliert aufgegangen waren, liessen zwar schon bei makroskopischer Betrachtung eine deutliche Verschiedenheit der Kolonien erkennen, jedoch war es nicht möglich, auf diese Weise das Verhältnis der verschiedenen Arten zu einander klarzulegen. Um zum Ziele zu gelangen, bedurfte es daher eines anderen, sicheren Verfahrens:

Von dem jedesmaligen zu untersuchenden Wasser der verschiedenen Versuchsreihen legte ich mit zehnpromzentiger Nährgelatine in Petri-Schalen Plattengüsse von verschiedenen Verdünnungen an. Die Verdünnung ging so weit, dass in den letzten Schalen sich etwa 70—100 isolierte Kolonien befanden. Bei der Ausführung der verschiedenen Verdünnungen im Reagensglase ist natürlich darauf zu achten, dass jedesmal das übertragene Wasser oder die übertragene Gelatine durch gründliches Agitieren gut verteilt werden. Nun bereitete ich mir einen frischen Nährboden in Petri Schalen, die eine Stunde lang bei einer Temperatur von 160°—170° sterilisiert waren, mit Normalgelatine. Auf die Oberfläche dieser erstarrten Gelatine wurde dann von den oben erwähnten Kulturen, in denen sich etwa 70—100 isolierte oberflächliche sowohl wie tiefliegende Kolonien befanden, mittelst eines ausgeglühten und wieder erkalteten Platindrahtes abgeimpft unter sorgfältiger Vermeidung, dass fremde Keime aus der Umgebung auf den Nährboden kamen.

Um in dieser Beziehung ganz sicher zu gehen, erhielten die übertragenen Kolonien auch eine bestimmte Anordnung, damit etwaige Fremdlinge sofort auffallen mussten. Auch wurde auf jede Schale eine beschränkte Anzahl von Kolonien übergeimpft, damit dieselben vollständig isoliert wachsen konnten, ohne sich gegenseitig zu berühren, eine Vorsichtsmassregel, die besonders für die verflüssigenden Arten in Anbetracht kommt.

Auf diese Weise ist es möglich, die Kolonien, die in den Originalplattengüssen teilweise an der Oberfläche, teilweise in der Tiefe aufgegangen, durch das angewandte Verfahren aber sämtlich auf der Oberfläche ihr Wachstum entwickeln können, zu studieren und, makroskopisch und mikroskopisch betrachtet, sowohl ihre Natur als auch das prozentische Verhältnis der verschiedenen Arten festzustellen.

Bevor ich zu den einzelnen Versuchsreihen übergehe, will ich die aus dem Schwabachwasser von mir gezüchteten Bakterien-Arten kurz beschreiben.

Erste Art.

Auf der Gelatineplatte erscheinen die Kolonien bei beginnender Verflüssigung schalenförmig, der Rand wird körnig und zackig. In der Gelatinestichkultur bildet sich in wenigen Tagen längs des Stiches ein weiter Trichter, der eine trübe Flüssigkeit mit flockigen Massen von fahler Farbe enthält. Die sehr beweglichen Bazillen sind kurz, dick, mit abgerundeten Enden versehen und treten gewöhnlich paarweise auf. Die Kulturen entwickeln Schwefelwasserstoff und Ammoniak; letzteres wurde nachgewiesen, indem ein sterilisierter feuchter Streifen Kurkumapapier, in das Reagensglas mit der Reinkultur gebracht, sich braun färbte. Über den Nachweis von Schwefelwasserstoff werde ich später berichten.

Nach der gegebenen Beschreibung, sowie nach verschiedenen anderen Anhaltspunkten, Wachstum auf Agar-Agar, auf Kartoffeln, Temperaturverhältnisse, Schnelligkeit des Wachstums, Gasproduktion etc. bestimmte ich diese Art nach „James Eisenberg, Bakteriologische Diagnostik“ als

Bacillus liquidus G. u. P. Francland.

Über die Gasproduktion des *Bacillus liquidus*, den ich stets im Wasser der Schwabach vorfand, war bisher noch nichts bekannt.

Die folgenden Arten wurden in derselben Weise bestimmt.

Zweite Art.

Runde verflüssigende Kolonien, trichterförmig eingesunken: die feste Gelatine in der Umgebung nimmt eine schöne, diffuse, grünlichgelb fluorescierende Färbung an. In der Gelatinestichkultur ist das Wachstum langsam, längs des Impfstiches kaum sichtbar, an der Oberfläche ist es ein schnelleres unter Bildung von luftblasenartigen Vertiefungen. Die fest gebliebene Gelatine um den Impfstich herum nimmt nach einiger Zeit diffuse, grünlichgelb fluorescierende Färbung an. Die Wuchsform besteht in kleinen, feinen Stäbchen, die sehr beweglich sind. Die Bildung von Schwefelwasserstoff ist nachgewiesen. Bestimmt als

Bacillus fluorescens liquefaciens.

Dritte Art.

Dieses Bakterium wächst auf Gelatineplatten in Form von runden, porzellanweißen, flach gewölbten Kolonien, welche mit einer schmalen homogenen Randzone versehen und im

Innern eigentümlich gezeichnet sind. In der Gelatinestichkultur zeigt das Wachstum oberflächlich und längs des Impfstiches eine weisse Farbe. Das mit Karbolfuchsin gefärbte Deckglastrockenpräparat lässt unter dem Mikroskop sehr kleine, sich zu unregelmässigen Haufen gruppierende Kokken erkennen. Auf Agar-Agar entsteht ein weisser Belag. Das Wachstum verläuft im allgemeinen langsam; Gelatine wird nicht verflüssigt. Diese Art gehört nicht zu den Fäulnis-erregern und ist bestimmt als

Micrococcus aquatilis Bolton.

Vierte Art.

Die oberflächlichen Kolonien erscheinen in Form von Farrenkräutern mit perlmutterartig schillerndem Glanze: die Umgebung nimmt allmählich eine prachtvolle grüne Fluoreszenz an. Längs des Stichkanals in der Gelatine ist das Wachstum sehr gering, oberflächlich mit fluorescierendem Schimmer. Die kurzen, feinen Stäbchen mit abgerundeten Enden sind nicht beweglich; die Gelatine wird nicht verflüssigt; bestimmt als

Bacillus fluorescens non liquefaciens.

Fünfte Art.

Auf der Gelatineplatte sind die Kolonien flächenhaft ausgebreitet in Form eines mehr oder weniger zarten Schleiers von mattweisser Farbe; die Oberfläche zeigt verschiedenartige Zeichnung, der Rand ist meistens unregelmässig gebuchtet: ziemlich kräftiges Wachstum entwickelt sich längs des Stichkanals in der Gelatine in Form von weissen Knöpfchen, oberflächlich ist eine zarte Ausbreitung ähnlich den Kolonien auf Platten zu beobachten. Die Untersuchung im

hängenden Tropfen ergibt träge bewegliche, ovale und kokkenähnliche Formen neben zahlreichen Kurzstäbchen. Reichliche Gasentwicklung äusserte sich durch die Bildung von wunderschönen goldglänzenden Münzen in der Gelatine, jedoch erwies sich dieselbe nicht als Schwefelwasserstoff. Auf Kartoffeln geimpft, entsteht eine erbsengelbe, üppige, saftig glänzende Wucherung, die sich langsam über die Oberfläche ausbreitet; bestimmt als

Bacterium coli commune Escherich.

Sechste Art.

Diese Bakterienart, *Proteus*, von Hauser im Jahre 1885 im faulenden Fleischwasser entdeckt, durchläuft in ihrer Entwicklung einen weiten Formenkreis. Besonders charakteristisch für den *Proteus* ist, dass derselbe unter geeigneten Ernährungsbedingungen ein Schwärmstadium einkehrt, wodurch derselbe sowohl an der Oberfläche wie auch im Innern erstarrter Nährgelatine rasche Ortsveränderungen vorzunehmen vermag, eine Erscheinung, die bis jetzt noch bei keiner anderen Bakterienart angetroffen ist und deshalb grosses Interesse beansprucht. Das Vorkommen dieser Bakterienart ist fast konstant bei jauchigen Prozessen aller Art, ferner im Wasser. *Proteus* gehört zu den häufigsten und wirksamsten Fäulniserregern, die Schwefelwasserstoffbildung tritt verhältnismässig schnell ein. (Siehe Hauser, Über Fäulnisbakterien, Leipzig 1885).

Siebente Art.

Runde, weisse, sich nicht über die Oberfläche erhebende Kolonien; bei schwacher Vergrösserung betrachtet, erscheinen dieselben lichtbraun und sind von einem lichten Hof

umgeben. In der Gelatinestichkultur ist das Wachstum wenig charakteristisch, geht aber unter rascher Verflüssigung vor sich; bei der Untersuchung im hängenden Tropfen bemerkt man unter dem Mikroskop kurze, plumpe und längere Stäbchen, letztere teilweise gebogen. Die Bildung von Schwefelwasserstoff ist nachgewiesen; bestimmt als

Bacillus albus putidus Maschek.

Achte Art.

Auf der Gelatineplatte verflüssigen die braunen Kolonien die Gelatine langsam. In der Stichkultur entwickeln sich zuerst im Stiche kleine Kolonien, dann tritt unter Bildung eines Verdunstungstrichters von oben langsam Verflüssigung ein. Wo Luft Zutritt, ist die Farbe der Kolonien weiss, bei Luftabschluss tritt rotbraune bis rote Färbung ein. Die Wachstumsform besteht durchschnittlich in langsam beweglichen Stäbchen mit abgerundeten Enden: auf Agar-Agar wachsen dieselben schneller als auf Gelatine. Die Kulturen verbreiten einen jaucheähnlichen Gestank; bestimmt als

Bacterium sulfureum Holschewnikoff.

Den Nachweis der Schwefelwasserstoffbildung der Bakterien-Kulturen führte ich aus nach Fromme, welcher vorschlägt, eine Eisengelatine mit 3⁰/₀ Eisentartrat oder Eisensaccharat zu verwenden, da nachgewiesenerweise ein Zusatz von Eisensalzen organischer Säuren dem Wachstum der Bakterien nicht schade. Ist Schwefelwasserstoff vorhanden, so tritt eine schwarze Färbung durch Bildung von Schwefel-eisen ein.

Bequemer gelang mir der Nachweis von Schwefelwasserstoff nach folgender Methode:

Von der auf Fäulniserregung zu untersuchenden Bakterienart legte ich mit einer Öse von der Reinkultur einen Gelatineplattenguss in einer Petri-Schale an, brachte in den Deckel derselben sterilisiertes schneeweisses Filtrirpapier, das mit einer sterilisierten zehnprozentigen Lösung von Plumbum aceticum purum getränkt wurde, und liess die Schale bei günstiger Temperatur und unter Abschluss des Lichtes stehen. Das Befeuchten des Papierses mit Bleizuckerlösung wurde wiederholt, um das Trockenwerden desselben zu vermeiden. Schon nach drei Tagen zeigte eine deutliche Schwärzung, Bildung von Schwefelblei, Schwefelwasserstoff an.

Dieses Verfahren ziehe ich dem nach Fromme aus folgenden Gründen vor:

Bei Herstellung einer Eisengelatine kann man sich nicht darauf verlassen, dass die Präparate neutral sind, sie reagieren häufig sauer, sodass die hergestellte Eisengelatine eventuell saure Reaktion erhält, mithin ein Wachstum nicht zu beachten ist, wie es bei meinen Untersuchungen vorkam. Das Neutralisieren mittelst Alkali erfordert grosse Genauigkeit, da ein geringer Überschuss desselben die Fällung von Eisenhydroxyd zur Folge hat. Ausserdem bildet sich auch beim Sterilisieren der gelösten Eisenpräparate meistens ein Niederschlag.

I. Versuchsreihe.

Feststellung der im Schwabach-Wasser vorkommenden
Bakterien-Arten bei Normaltemperatur.

In drei Erlenmeyer'sche Kolben von je 200 ccm Inhalt, mit Wattepfropf versehen bei 160°—170° eine Stunde sterilisiert, schöpfte ich Wasser aus der Schwabach. Dasselbe wurde sofort nach der Entnahme zu Plattengüssen in

Petri-Schalen mit zehnprozentiger Gelatine verarbeitet. Die drei Proben a, b, c wurden vor jedesmaliger Benutzung tüchtig umgeschüttelt, um eine gleichmässige Verteilung der Bakterien zu erzielen. Für die Plattengüsse, die zum Zählen bestimmt waren, wurde von jeder Probe ein Tropfen Wasser benutzt, während die anderen Verdünnungen so angelegt wurden, dass in den letzten Schalen etwa 70—100 isolierte Keime aufgingen. Das Überimpfen dieser Kolonien geschah in der oben näher ausgeführten Weise. Die Kulturen standen vor Licht geschützt bei einer Temperatur von etwa 18°—20° mehrere Tage, bis alle Keime aufgegangen waren.

Probe a.

Auf 1 ccm Wasser kommen 22,230 Keime.

Abgeimpft wurde von 55 isolierten Kolonien eines Plattengusses. Daraus ergibt sich, auf hundert ungerechnet, folgendes Verhältnis der verschiedenen Bakterien-Arten:

<i>Micrococcus aquatilis</i>	80%
<i>Bacillus liquidus</i>	11%
<i>Bacillus fluorescens non liquefac.</i>	5%
<i>Bacterium sulfureum</i>	4%
Mithin im ganzen Fäulnisbakterien	15%.

Probe b.

Auf 1 ccm Wasser kommen 46,930 Keime.

Abgeimpft wurde von 60 isolierten Kolonien:

<i>Micrococcus aquatilis</i>	78%
<i>Bacterium sulfureum</i>	7%
<i>Bacterium coli commune</i>	7%
<i>Bacillus liquidus</i>	5%
<i>Bacillus fluoresc. liquefac.</i>	3%
Mithin im ganzen Fäulnisbakterien	15%.

Probe c.

Auf 1 ccm Wasser kommen 86,450 Keime.

Abgeimpft wurde von 65 isolierten Kolonien:

<i>Micrococcus aquatilis</i>	58 ⁰ / ₀
<i>Bacillus liquidus</i>	23 ⁰ / ₀
<i>Bacterium coli commune</i>	14 ⁰ / ₀
<i>Bacillus fluoresc. liquef.</i>	3 ⁰ / ₀
<i>Bacterium sulfureum</i>	1 ⁰ / ₀

Mithin im ganzen Fäulnisbakterien 27⁰/₀.

Im Mittel kommen auf 1 ccm Wasser 51,870 Keime.

Fäulnisbakterien im Mittel 19⁰/₀.

II. Versuchsreihe.

Feststellung der im Schwabach-Wasser vorkommenden
Bakterien-Arten bei höherer Temperatur (37°).

Drei Proben a, b, c mit je 200 ccm Schwabach-Wasser
standen 48 Stunden im Brutschrank. Darauf wurden in
ähnlicher Weise, wie in der ersten Versuchsreihe, Platten-
güsse angelegt; für die Schalen, die ausgezählt werden soll-
ten, kam wiederum je ein Tropfen Wasser in Anwendung.

Probe a.

Auf 1 ccm Wasser kommen 19,760 Keime.

Abgeimpft wurde von 73 isolierten Kolonien. Daraus
ergibt sich folgendes prozentische Verhältnis der verschiede-
nen Bakterien-Arten:

<i>Micrococcus aquatilis</i>	60 ⁰ / ₀
<i>Bacillus liquidus</i>	19 ⁰ / ₀
<i>Bacterium coli commune</i>	19 ⁰ / ₀
<i>Bacillus fluoresc. non liquefac.</i>	1 ⁰ / ₀
Mithin im ganzen Fäulnisbakterien	19 ⁰ / ₀ .

Probe b.

Auf 1 cem Wasser kommen 34,580 Keime.

Abgeimpft wurde von 73 isolierten Kolonien:

Micrococcus aquatilis	60 ⁰ / ₀
Bacterium coli commune	26 ⁰ / ₀
Bacillus liquidus	14 ⁰ / ₀

Mithin im ganzen Fäulnisbakterien 14⁰/₀.

Probe c.

Auf 1 cem Wasser kommen 29,484 Keime.

Abgeimpft wurde von 70 isolierten Kolonien:

Micrococcus aquatilis	76 ⁰ / ₀
Bacterium coli commune	21 ⁰ / ₀
Bacillus liquidus	1 ⁰ / ₀
Bacterium sulfureum	1 ⁰ / ₀

Mithin im ganzen Fäulnisbakterien 2⁰/₀.

Im Mittel kommen auf 1 cem Wasser 27,941 Keime.

Fäulnisbakterien im Mittel 12⁰/₀.

Wie aus den Zahlen ersichtlich, ist sowohl die Keimzahl als auch der Prozentsatz der Fäulnisbakterien bei Brüttemperatur zurückgegangen, ein neuer Beweis, dass die Wasserbakterien im allgemeinen bei gewöhnlicher Temperatur besser gedeihen, als bei höherer. Das Zurückgehen der Fäulnisbakterien erklärt sich folgendermassen: Die Fäulnis d. h. die faulige unter Entwicklung stinkender Gase einhergehende Zersetzung organischer Körper wird bedingt durch die Anwesenheit und Lebensthätigkeit von Spaltpilzen. Die Vermehrung dieser sogenannten Fäulnisbakterien ist aber abhängig von dem mehr oder weniger reichlichen Vorhandensein fäulnisfähiger Stoffe. Da im gegebenen Fall die Keimzahl der Bakterien bei höherer Temperatur zurück-

gegangen ist, und dadurch auch die Stoffwechselprodukte derselben vermindert sind, so haben die Fäulnisbakterien weniger günstige Bedingungen zur Vermehrung, als in der Versuchsreihe I, wo die Keimzahl bei Normaltemperatur eine viel grössere ist, und die infolge dessen vermehrten Zersetzungsprodukte der Bakterien für die Fäulnisbakterien keinen günstigen Nährboden schaffen.

III. Versuchsreihe.

Feststellung der im Schwabach-Wasser vorkommenden Bakterien-Arten bei Anwesenheit fäulnisfähiger Stoffe und höherer Temperatur (37°).

Drei Proben a, b, c, je 200 ccm Schwabach-Wasser, wurden je mit einer Spur rohen Fleisches versetzt und unter häufigem Umschütteln 48 Stunden in den Brütschrank gestellt. Die Plattengüsse zum Zählen wurden mit je einem Tropfen Wasser, die übrigen in entsprechenden Verdünnungen angelegt.

Probe a.

Auf 1 ccm Wasser kommen 296,400 Keime.

Abgeimpft wurde von 108 isolierten Kolonien: Daraus ergibt sich folgendes Verhältnis der verschiedenen Arten zu einander:

Bacterium sulfureum	29 ⁰ / ₀
Bacillus liquidus	26 ⁰ / ₀
Micrococcus aquatilis	21 ⁰ / ₀
Bacterium coli commune	18 ⁰ / ₀
Bacillus fluoresc. liquefac.	3 ⁰ / ₀
Bacillus fluoresc. non liquefac.	3 ⁰ / ₀
Mithin im ganzen Fäulnisbakterien	58 ⁰ / ₀ .
	2 *

Probe b.

Die Kolonien waren so dicht aufgegangen, dass nicht gezählt werden konnte.

Abgeimpft wurde von 96 isolierten Kolonien:

Bacillus albus putidus	59 ⁰ / ₀
Bacillus liquidus	20 ⁰ / ₀
Micrococcus aquatilis	15 ⁰ / ₀
Bacterium coli commune	4 ⁰ / ₀
Bacillus fluoresc. non liquefac.	1 ⁰ / ₀

Mithin im ganzen Fäulnisbakterien 79⁰/₀.

Probe c.

Auf 1 cem Wasser kommen 59,280 Keime.

Abgeimpft wurde von 60 isolierten Kolonien:

Bacterium coli commune	23 ⁰ / ₀
Micrococcus aquatilis	32 ⁰ / ₀
Bacillus liquidus	22 ⁰ / ₀
Bacterium sulfureum	22 ⁰ / ₀
Bacillus fluoresc. liquefac.	2 ⁰ / ₀

Mithin im ganzen Fäulnisbakterien 46⁰/₀.

Im Mittel kommen auf 1 cem Wasser 177,840 Keime.
Fäulnisbakterien im Mittel 61⁰/₀.

Durch Zusatz einer Spur. rohen Fleisches zu dem Schwabach-Wasser, das bei Brüttemperatur stand, hat sich das Verhältnis der verschiedenen Bakterien-Arten zu einander wesentlich geändert. Die Keimzahl übertrifft weit über das Dreifache die Zahl der Bakterien, die aus dem Wasser bei Normaltemperatur gezüchtet und gezählt wurden.

Es sind die Fäulnisbakterien, welche nun die Oberhand haben: es scheint also, dass auch die höhere Tem-

peratur, welche im allgemeinen den gewöhnlichen Wasserbewohnern nicht zusagt, die Vermehrung der Fäulnisbakterien bei Anwesenheit reichlich fäulnisfähiger Stoffe begünstigt.

IV. Versuchsreihe.

Verhalten der Choleraspirillen im Schwabach-Wasser bei höherer Temperatur (37°).

Zu einem sicheren Verfahren, die Choleraspirillen nachzuweisen, wie es in dieser und der nächsten Versuchsreihe geschehen soll, gehören nach Koch folgende Teile:

- 1) Die Gelatineplattenkultur;
- 2) Pepton-Kultur;
- 3) Mikroskopische Untersuchung;
- 4) Cholerarot-Reaktion.

Zu diesem Zwecke wurden drei mit Wattepfropf versehene sterilisierte Erlenmeyer'sche Kolben, Probe a, b, c, mit 150 ccm Schwabach-Wasser und je sechs Ösen voll einer Reinkultur *Cholera asiatica* beschickt und sofort unter wiederholtem Umschütteln in den Brütschrank gestellt. Nach 72 Stunden legte ich mit Normalgelatine Plattengüsse in Petri-Schalen an; auf die Zählplatten kam wieder je ein Tropfen Wasser.

Die Analyse der aufgegangenen Keime ergab folgendes Resultat:

Probe a.

Auf 1 ccm Wasser kommen 34,580 Keime.

Abgeimpft wurde von 81 isolierten Kolonien. Daraus ergibt sich folgendes Zahlenverhältnis:

<i>Micrococcus aquatilis</i>	71%
<i>Bacillus liquidus</i>	16%

Bacillus fluoresc. non liquefac.	7 ⁰ / ₀
Bacillus fluoresc. liquefac.	4 ⁰ / ₀
Bacterium coli comune	1 ⁰ / ₀
Choleraspirillen	0 ⁰ / ₀
Mithin im ganzen Fäulnisbakterien	20 ⁰ / ₀ .

Probe b.

Auf 1 ccm Wasser kommen 22,230 Keime.

Abgeimpft wurde von 104 isolierten Kolonien:

Micrococcus aquatilis	47 ⁰ / ₀
Bacterium coli commune	19 ⁰ / ₀
Bacillus liquidus	16 ⁰ / ₀
Bacillus fluoresc. non liquefac.	13 ⁰ / ₀
Bacillus fluoresc. liquefac.	6 ⁰ / ₀
Choleraspirillen	0 ⁰ / ₀
Mithin im ganzen Fäulnisbakterien	22 ⁰ / ₀ .

Probe c.

Auf 1 ccm Wasser kommen 27,170 Keime.

Abgeimpft wurde von 85 isolierten Kolonien:

Micrococcus aquatilis	69 ⁰ / ₀
Bacterium coli commune	9 ⁰ / ₀
Bacillus fluoresc. non liquefac.	9 ⁰ / ₀
Bacillus liquidus	8 ⁰ / ₀
Bacillus fluoresc. liquefac.	4 ⁰ / ₀
Choleraspirillen	0 ⁰ / ₀
Mithin im ganzen Fäulnisbakterien	12 ⁰ / ₀ .

Im Mittel kommen auf 1 ccm Wasser 27,993 Keime.
Fäulnisbakterien im Mittel 18⁰/₀.

Durch den Gelatineplattenguss konnten also keine Cholerakulturen nachgewiesen werden: es folgt daraus, dass die Spirillen höchstens noch spärlich vorhanden waren.

Drei neue Wasserproben, in derselben Weise wie vorher behandelt, wurden schon nach 48 stündigem Aufenthalt im Brütschrank auf Choleraspirillen untersucht.

Probe a.

Auf 1 cem Wasser kommen 69,160 Keime.

Abgeimpft wurde von 87 isolierten Kolonien:

Micrococcus aquatilis	55 ⁰ / ₀
Bacterium coli commune	24 ⁰ / ₀
Bacillus liquidus	17 ⁰ / ₀
Bacterium sulfureum	2 ⁰ / ₀
Bacillus albus putidus	1 ⁰ / ₀
Choleraspirillen	0 ^e / ₀

Mithin im ganzen Fäulnisbakterien 20⁰/₀.

Probe b.

Auf 1 cem Wasser kommen 32,110 Keime.

Die anderen für die Analyse angelegten Plattengüsse waren für das Überimpfen nicht geeignet.

Probe c.

Auf 1 cem Wasser kommen 39,520 Keime.

Zum Abimpfen kamen zwei Plattenkulturen in Anwendung. Von der einen wurden 60 isolierte Kolonien übergeimpft:

Micrococcus aquatilis	65 ⁰ / ₀
Bacterium coli commune	27 ⁰ / ₀
Bacillus liquidus	3 ⁰ / ₀
Bacillus albus putidus	3 ⁰ / ₀
Bacterium sulfureum	2 ⁰ / ₀
Choleraspirillen	0 ⁰ / ₀

Mithin im ganzen Fäulnisbakterien 8⁰/₀.

Von dem anderen Plattenguss wurden 56 isolierte Kolonien übergeimpft:

Micrococcus aquatilis	68 ⁰ / ₀
Bacterium coli commune	25 ⁰ / ₀
Bacillus liquidus	5 ⁰ / ₀
Bacterium sulfureum	2 ⁰ / ₀
Choleraspirillen	0 ⁰ / ₀
Mithin im ganzen Fäulnisbakterien	7 ⁰ / ₀ .

Im Mittel kommen auf 1 cem Wasser 46,930 Keime. Fäulnisbakterien im Mittel 12⁰/₀.

Auch in diesem Falle konnte bei eifrigstem Suchen keine einzige Cholera Kolonie ausfindig gemacht werden.

Das Wachstum von Bacillus liquidus auf der Gelatineplatte hat gewisse Ähnlichkeit mit dem der Choleraspirillen, namentlich bei Beginn der Verflüssigung. Um jederzeit Vergleichsobjekte bei meinen mikroskopischen Untersuchungen zu besitzen, legte ich mir von Bacillus liquidus und den Cholera vibrionen Plattenkulturen in Petri-Schalen von verschiedenen Verdünnungen an und fixierte dieselben durch Formalindämpfe nach dem von Hauser angegebenen Verfahren dann, als sich das Wachstum der beiden Arten in den verschiedenen Stadien zeigte.

Um auch spärlich vorhandene Choleraspirillen in einer Flüssigkeit nachzuweisen, hat man nach Verbesserungen der Methode gesucht: es sind in neuerer Zeit derartige Verbesserungen mehrfach angegeben worden. Diese beruhen zunächst darauf, dass man dem zu untersuchenden Wasser bestimmte, für das Wachstum der Cholera bakterien günstige Zusätze gibt und dass man das Gemisch dann eine gewisse Zeit bei einer für die Cholera bakterien sehr günstigen, für die Wasserbakterien weniger günstigen Temperatur stehen lässt. Koch setzt dem Wasser 1⁰/₀ Peptonum (Witte), 1⁰/₀ Kochsalz und eventuell Sodalösung zu, um die Lösung

kräftig alkalisch zu machen; die Mischung wird dann in den Brütschrank gestellt und von Zeit zu Zeit die Oberfläche auf Choleraspirillen weiter untersucht. Die Oberfläche deshalb, weil, wie Hesse nachgewiesen hat, die Cholera-bakterien ein sehr hohes Sauerstoffbedürfnis besitzen; sie streben nach der Oberfläche und vermehren sich daselbst.

Nachdem die Wasserproben a und c mit je 150 cem Schwabach-Wasser und je sechs Ösen voll einer Reinkultur Choleravibrien 60 Stunden im Brütschrank gestanden hatten, wurden dieselben nach dem angegebenen Koch'schen Pepton-Kultur-Verfahren behandelt und zwar waren die Zusätze in allen Fällen vorher sterilisiert.

Nach 8 Stunden war auf der Oberfläche eine Haut bemerkbar. Von dieser Kahmbaut wurde dann bei beiden Proben abgeimpft in eine sterilisierte alkalische Lösung von 1⁰/₀ Pepton und 1⁰/₀ Kochsalz (nach Koch); nach 48 stündigem Aufenthalt dieser geimpften Lösungen im Brütschrank setzte ich dem Nährmedium reine konzentrierte Salzsäure im Verhältnis 1 : 10 zu und erwärmte etwas, um die Reaktion zu beschleunigen. Die Flüssigkeit blieb farblos, mithin war die Abwesenheit der Choleraspirillen nachgewiesen.

Bei der Ausführung von Kontrollversuchen unter denselben Bedingungen mit einer Reinkultur von Choleravibrien färbte sich die Lösung rosarot.

Diese Reaktion, Cholerarotreaktion genannt, beruht bekanntlich darauf, dass künstliche Cholerabazillenkulturen aus den Eiweisskörpern des Nährbodens Indol und aus den anwesenden Nitraten vermöge ihres ausgesprochenen Reduktionsvermögens Nitrite bilden. Wird nun zum Nährmedium reine konzentrierte Salzsäure oder Schwefelsäure zugesetzt, so wird salpetrige Säure frei und es bildet sich

Nitrosoindol, das die charakteristische Rosa- bis Burgunder-rotfärbung verursacht.

Die Probe a wurde nach 60 stündigem Aufenthalt im Brutschrank, wie erwähnt, mit kräftig alkalischer Pepton-Kochsalzlösung versetzt und wieder der Brüttemperatur ausgesetzt. Nach weiterem Verlauf von 24 Stunden legte ich von der gebildeten Kahlhaut Plattengüsse in Petri-Schalen an.

Abgeimpft wurde von 96 isolierten Kolonien:

<i>Micrococcus aquatilis</i>	45%
<i>Bacterium coli commune</i>	36%
<i>Bacillus liquidus</i>	18%
<i>Bacillus albus putidus</i>	1%
<i>Choleraspirillen</i>	0%

Mithin im ganzen Fäulnisbakterien 19%.

Um festzustellen, ob die gebildete Kahlhaut eine Reinkultur von Cholera-bakterien enthielt, oder ob letztere überhaupt vorhanden waren, wurde wieder wie vorher die Cholera-rotreaktion angestellt; dieselbe trat nicht ein.

Das Verfahren des Überimpfens aller Kolonien einer Platte auf einen frischen Nährboden ist sicher ein rationelles. Trotzdem gelang es, auch bei Anwendung des Koch'schen Pepton-Kultur-Verfahrens, von dem Koch sagt, dass sich dasselbe bewährt hat, nicht, den Nachweis von Cholera-keimen im Wasser bei höherer Temperatur zu führen.

Auch die Nitrosoindolreaktion fiel stets negativ aus.

V. Versuchsreihe.

Verhalten der Choleraspirillen im Schwabach-Wasser bei Anwesenheit fäulnisfähiger Stoffe und höherer Temperatur (37°).

Drei Proben a, b, c, je 150 ccm Schwabach-Wasser, wurden je mit einer Spur rohen Fleisches versetzt, je

mit 8 Ösen voll einer Reinkultur von Choleraspirillen geimpft und unter wiederholtem Umschütteln in den Brüttschrank gestellt.

Nach 48 stündigem Aufenthalt in demselben legte ich von Probe a Plattengüsse an.

Auf 1 cem Wasser kommen 173,888 Keime.

Von einer Schale wurden 88 isolierte Kolonien übergeimpft. Daraus ergibt sich folgendes Zahlenverhältnis:

<i>Micrococcus aquatilis</i>	42 ⁰ / ₀
<i>Bacterium coli commune</i>	28 ⁰ / ₀
<i>Proteus Hauser</i>	15 ⁰ / ₀
<i>Bacillus albus putidus</i>	12 ⁰ / ₀
<i>Bacillus fluoresc. non liquefac.</i>	2 ⁰ / ₀
Choleraspirillen	0 ⁰ / ₀
Mithin im ganzen Fäulnisbakterien	27 ⁰ / ₀ .

Von der Wasserprobe b legte ich nach 67 stündigem Aufenthalt im Brüttschrank Plattengüsse an.

Von einer Schale wurden 63 isolierte Kolonien übergeimpft:

<i>Micrococcus aquatilis</i>	51 ⁰ / ₀
<i>Proteus Hauser</i>	40 ⁰ / ₀
<i>Bacillus fluoresc. liquefac.</i>	9 ⁰ / ₀
Choleraspirillen	0 ⁰ / ₀
Mithin im ganzen Fäulnisbakterien	49 ⁰ / ₀ .

Bei der mikroskopischen Durchmusterung der Originalschalen, von denen nicht abgeimpft war, fand ich keine Cholerakolonien.

Nachdem die Probe b und c 67 Stunden im Brüttschrank gestanden hatten, wurden dieselben mit 1⁰/₀ Peptonum (Witte) und 1⁰/₀ Kochsalz versetzt, kräftig alkalisch gemacht mittelst Sodalösung und wieder in den Brüttschrank

gestellt. Schon nach 6 Stunden hatte sich die Flüssigkeit zwar noch nicht auffällig getrübt — es war eine schwache Trübung auch schwierig zu beobachten, da das Wasser durch das schon vorher in Fäulnis übergegangene Fleisch etwas getrübt war — an der Oberfläche hatten sich aber bei Probe b und c Spuren einer zarten Haut gebildet, eine Erscheinung, die mich veranlasste, sofort von dieser Kahmhaut Platten-güsse in Petri-Schalen mit Normalgelatine anzulegen.

Probe b.

Von 104 isolierten Kolonien einer Schale wurde übergeimpft:

Proteus Hauser	75 ⁰ / ₀
Micrococcus aquatilis	25 ⁰ / ₀
Choleraspirillen	0 ⁰ / ₀
Mithin im ganzen Fäulnisbakterien	75 ⁰ / ₀ .

Probe c.

Übergeimpft wurde von 72 Kolonien:

Proteus Hauser	62 ⁰ / ₀
Micrococcus aquatilis	37 ⁰ / ₀
Choleraspirillen	0 ⁰ / ₀
Mithin im ganzen Fäulnisbakterien	62 ⁰ / ₀ .

Die mikroskopische Durchmusterung der Originalplatten-güsse, von denen nicht abgeimpft war, ergab keine Cholera-kolonien.

Bevor ich für diese Versuchsreihe auf die charakteristische Cholerarotreaktion eingehe, muss ich vorausschicken, dass bei Ausführung derselben ein neues Nährmedium von Bleisch verwendet wurde, welches lediglich die zum Wachstum und zur Reaktion nötigen Stoffe, Pepton, Kochsalz,

Wasser und Nitrate, diese aber in der für Wachstum und Reaktion gedeihlichen Menge enthält.

Nach den Ausführungen von Bleisch können die Fehlerquellen bei Anstellung der Nitrosoindolreaktion verschieden sein:

Die für das Zustandekommen der Cholerarotreaktion neben Indol notwendigen Nitrite werden durch die Choleraspirillen im wesentlichen aus den im Nährboden vorhandenen Nitraten gebildet. Auch in Peptonkochsalzlösungen, in denen die Nitrate durch die Diphenylaminreaktion nicht nachgewiesen werden können, können durch die Choleraspirillen Nitrite gebildet werden, jedoch in so geringer Menge, dass sie allein für das Zustandekommen der Rotreaktion ohne Einfluss bleiben.

Schon ein geringer Überschuss von Nitraten im Nährmedium über das an sich sehr niedrig liegende Optimum genügt, um den Eintritt der Reaktion unter dem Einfluss der aus ihnen im Überschuss gebildeten Nitrite zu verhindern.

Den gleichen Einfluss übt ein Überschuss fertiger Nitrite im Nährmedium aus.

Eine weitere Veranlassung zum gänzlichen oder längeren Ausbleiben der Reaktion kann unter Umständen eine durch die Zusammensetzung des Nährbodens bedingte mangelhafte, bezugsweise verzögerte, Indolbildung abgeben.

Andererseits kann die Verwendung nitrihaltiger Nährmedien oder Säuren zur Reaktion eine Cholerarotreaktion vortäuschen.

Reine Peptonkochsalzlösungen, denen die Nitrate in der zur Reaktion notwendigen Menge genau zugemessen worden sind, verdienen deshalb, und weil sie die Reaktion in kürzerer Zeit geben, den Vorzug.

Als ein solches den Ansprüchen genügendes Nährmedium empfiehlt Bleisch folgende Lösung:

Pepton. sicc. (Witte) 2,0
Natr. chlorat. purissim. 0,5
Aq. dest. 100,0
Sol. Kalii nitric. purissim. (0,08 : 100,0)
Gutt. 30—50.

Die Lösung wird gekocht, filtrirt und ist nach ihrer Sterilisation zum Gebrauche fertig.

Die Reaktion lässt sich anderen Indolbildnern, wie Kot- und Fäulnisbakterien, gegenüber, auch nach mehrtägigem Aufenthalt der Kulturen im Brutschrank bei 37°, nicht hervorrufen. Diese letzte Thatsache ist speziell für meine Untersuchungen in der fünften Versuchsreihe von Wichtigkeit.

Von der zarten Kahmhaut, die sich, wie oben erwähnt, schon nach sechs Stunden bei Probe b und c gebildet hatte, impfte ich ab in das Nährmedium nach Bleisch, indem ich mit der ausgeglühten und wieder erkalteten Platinöse für jeden Versuch zweimal über die Oberfläche fuhr, um möglichst viele Stellen des Häutchens zu berühren. Nach 24 stündigem Aufenthalt der Kulturen im Brutschrank setzte ich reine, konzentrierte Salzsäure im Verhältniss 1:10 zu und erwärmte etwas. Das Cholerarot wurde nicht sichtbar.

Es sei hier erwähnt, dass die ausgeführten Kontrollreaktionen mit je einer Öse voll Reinkultur Choleravibrionen schon nach Zusatz weniger Tropfen Salzsäure und ohne nachfolgendes Erwärmen eine prachtvolle Burgunderrotfärbung hervorriefen.

Nachdem die Proben mit Pepton und Kochsalz 24 Stunden im Brutschrank gestanden, hatte sich die Flüssigkeit deutlich getrübt, und die Kahmhaut auf der Oberfläche besser entwickelt. Die Analyse der von der Kahmhaut der Probe b angelegten Plattengüsse war folgende:

Übergeimpft wurden 134 isolierte Kolonien:

Proteus Hauser	94 0/0
Micrococcus aquatilis	6 0/0
Choleraspirillen	0 0/0.

Mithin im ganzen Fäulnisbakterien 94 0/0.

In derselben Weise wie vorher impfte ich von der Kahlhaut in die Nährlösung nach Bleisch, und zwar wurden von Probe b und c je zwei Versuche angestellt. Die Cholerarotreaktion trat auch in diesem Falle nicht ein.

Mikroskopische Untersuchung der Kahlhaut:

Probe b.

Im hängenden Tropfen unter Anwendung von hohlgeschliffenen Objektträgern:

Im allgemeinen ist keine Eigenbewegung zu beobachten, namentlich nicht bei den schlanken Kurzstäbchen, die am meisten vertreten sind. Vereinzelt wurde Eigenbewegung bemerkt.

Mit Carbol-Fuchsin gefärbtes Deckglastrockenpräparat: Kokkenartige Bakterien, Ovalform und Kurzstäbchen.

Probe c.

Im hängenden Tropfen:

Teilweise mässige Eigenbewegung, teilweise keine Bewegung; allgemeine Wuchsform: Stäbchen.

Mit Carbol-Fuchsin gefärbtes Deckglastrockenpräparat: Ebenso wie bei Probe b.

Die mikroskopische Durchmusterung der Originalschalen, von denen nicht abgeimpft war, ergab keine einzige Cholera-kolonie.

Zur besseren Übersicht der erhaltenen Resultate diene folgende kurze tabellarische Zusammenstellung:

Die verschiedenen Versuchsreihen	Nach Stunden	Durchschnittliche Keimzahl d. Bakter. für 1 cem Wasser	Durchschnittlicher Prozentsatz der Wasserbakterien	Durchschnittlicher Prozentsatz der Fäulnisbakterien	Choleraspirillen
I. Wasser bei Normaltemperatur	48	51,870	81 ⁰ / ₀	19 ⁰ / ₀	
II. Wasser bei Brüttemperatur	48	27,941	88 ⁰ / ₀	12 ⁰ / ₀	
III. Wasser bei 37° und Zusatz von Fleisch	48	177,840	39 ⁰ / ₀	61 ⁰ / ₀	
IV. Wasser bei Brüttemperatur und Zusatz von Choleraspirillen	48 68 72 84	46,930 27,993	88 ⁰ / ₀ 82 ⁰ / ₀	12 ⁶ / ₀ 18 ⁰ / ₀	0 0 0 0
V. Wasser bei Brüttemperatur und Zusatz von Fleisch und Choleraspirillen	48 67 73 91	173,888 	73 ⁰ / ₀ 51 ⁰ / ₀ 31 ⁰ / ₀ 6 ⁰ / ₀	27 ⁰ / ₀ 49 ⁰ / ₀ 69 ⁰ / ₀ 94 ⁰ / ₀	0 0 0 0

Die angegebenen Zahlen ergeben folgendes Endresultat:

In der ersten Versuchsreihe bei Normaltemperatur, in der zweiten und vierten bei höherer Temperatur, haben die gewöhnlichen Wasserbakterien die Oberhand, die Fäulnisbakterien treten zurück. Die Choleraspirillen aber gehen trotz der ihnen zusagenden Brüttemperatur schon nach 48 Stunden zu Grunde.

In der dritten Versuchsreihe bei Anwesenheit fäulnisfähiger Stoffe und höherer Temperatur übertrifft die Keimzahl diejenige der ersten Versuchsreihe bei Normaltemperatur weit über das Dreifache. Es sind die Fäulnisbakterien, durchschnittlicher Prozentsatz 61, die sich nun die Herrschaft errungen haben, ebenso, wie in der fünften Versuchsreihe, wo dieselben mit der Zeit des Aufenthaltes im Brüttschrank zunehmen und schliesslich 94⁰/₀ der anwesenden Bakterien ausmachen.

Die durchschnittliche Keimzahl der Versuchsreihe III deckt sich fast mit derjenigen in der Reihe V. In beiden Fällen standen die Wasserproben 48 Stunden im Brüttschrank, im ersten Falle ohne Zusatz, im zweiten Falle mit einem Zusatz von je 8 Ösen voll Cholerareinkultur.

Die Nitrosoindolreaktion fiel in allen Fällen negativ aus.

Die Gesamtzahl der isolierten Kolonien, von denen auf die Oberfläche eines frischen Nährbodens übergeimpft wurde, beträgt 1026, von denen keine als Cholerakolonie identifiziert werden konnte.

Nach diesen Ausführungen müssen die Choleraspirillen im Wasser bei höherer Temperatur und namentlich bei Anwesenheit fäulnisfähiger Stoffe in dem Kampfe mit den Fäulnisbakterien und anderen Wasserbewohnern offenbar unterliegen, auf keinen Fall können dieselben sich viele Tage lebensfähig erhalten.

Die neuere Litteratur enthält meines Wissens keine Berichte über das Verhalten der Choleraspirillen im Wasser bei höherer Temperatur.

Wenn die Cholerabakterien im Wasser bei Brüttemperatur, die für sie am günstigsten ist, zu Grunde gehen, so ist ihre Existenz noch mehr bedroht bei Temperaturen, die mehr oder weniger tiefer liegen, etwa bei 20° — 25° ; in diesem Falle wird auch das Wachstum der Wasserbakterien relativ zunehmen, dasjenige der Fäulnisbakterien wird jedenfalls nicht vermindert. Eine Temperatur von 37° wird das Hamburger Elbe-Wasser wohl nie gehabt haben, auch nicht in der zweiten Hälfte des Monats August, wo eine auffallend hohe Lufttemperatur herrschte.

Wenn man nun die Choleraepidemie in Hamburg im Jahre 1892 auf Grund der hier festgestellten Thatsachen beurteilt, so möchte ich zunächst darauf hinweisen, dass die Verhältnisse in Hamburg die gleichen Bedingungen boten, wie sie in den hier beschriebenen Versuchen gegeben waren.

Eine kurze Schilderung der Hamburger Wasserversorgung zur Zeit der Epidemie möge dieses veranschaulichen.

Das Wasser, welches in die Bassins des Wasserwerkes gelangt, musste durch die Flut stets sicher mit Fäkalstoffen der Stadt beladen sein. Der Bedarf an Wasser ist aber so gross, dass in diesem Bassin, selbst für die geringe Vorreinigung durch Sedimentierung keine ausreichende Zeit vorhanden ist. Infolge dessen gelangt das Wasser, da keinerlei Filtration vorhanden ist, stets gemischt mit Hamburger Fäkalstoffen, toten Fischen u. s. w. direkt in die Leitung. Das Wasser passiert nun nicht etwa schnell die Leitung, sondern in jedem Hause befindet sich ein kleines Wasserreservoir, in dem erst sich der Schlamm aus dem Wasser niederschlägt, so dass hier die verdächtigsten Stoffe aus den Häusern, die durch Aborte und Kanäle entfernt wurden, zum Teil wieder

in die Häuser gelangen, aufgespeichert und konserviert werden. Das Wasser wird durch diese Sedimentierung in den Hausreservoirs in der Regel so ungenügend gereinigt, dass noch ausserdem Hausfilter vielfach im Gebrauch sind. Das einzige Filter, welches bei einer Leitung aber etwas helfen kann, ist, wie die Erfahrung lehrt, ein Centralfilter, und dieses fehlt von Anfang an.

Bekanntlich sind im Hamburger Wasser während der Epidemie keine Choleraspirillen nachgewiesen worden, obwohl zweifellos täglich neue Infektionen des Wassers vorkamen.

Eine wesentliche Vermehrung derselben ist deshalb nicht anzunehmen, da eine solche auch mit den damaligen Methoden hätte nachgewiesen werden müssen.

Nach den angeführten Versuchen, bei denen das Köch'sche Pepton-Kultur-Verfahren in Anwendung kam, ist eine Anreicherung des Wassers mit Choleraspirillen bei höherer Temperatur und Anwesenheit fäulnisfähiger Stoffe ausgeschlossen, vielmehr ist anzunehmen, dass, wenn nicht stets von neuem Infektionen des Wassers stattgefunden hätten, letzteres bald von Choleraspirillen frei geworden wäre.

Diese Thatsachen stehen im direkten Widerspruch mit der Auffassung von Hueppe, dass unter den bekannten in Hamburg vorhanden gewesenen Bedingungen sich auch die Kommabazillen trotz der Gegenwart der gewöhnlichen Wasser- und Fäulnisbakterien viele Tage lebensfähig halten könnten, und dass unter den damaligen Verhältnissen in Hamburg das Leitungswasser wohl den Charakter einer Nährlösung für Kommabazillen hätte annehmen können, so dass also eine starke Vermehrung der Choleraspirillen im Leitungswasser hätte stattfinden müssen.

Was war nun aber die Ursache des explosionsartigen Auftretens der Hamburger Epidemie, wenn eine Vermehrung der in das Wasser gelangten Spirillen nicht stattgefunden

hat? Trotzdem ist dieselbe zweifellos zu suchen in dem Wasser. Dafür sprechen folgende Thatsachen:

In Hamburg erkrankten 30 per mille der Bevölkerung an Cholera. Altona, das mit Hamburg so eng verbunden ist, dass nur der Ortskundige etwas von der Grenze zwischen beiden Orten weiss, das aber sorgfältig filtrirtes Elbe-Wasser bezieht, hatte 4 per mille Krankheitsfälle.

Auf der Elbinsel Wilhelmsburg kamen im Innern nur einige sporadische Fälle vor unter Leuten, die auf Hamburger Gebiet gearbeitet hatten; nur unter dem unmittelbar an der Elbe wohnenden Teil der Bewohner kam es zu einer Epidemie, und hier waren wieder die mit eigenen Brunnen versehenen Häuser auffallend verschont geblieben gegenüber den anderen, so dass auch hier der Nachteil des Elbewassers unverkennbar ist.

Ferner ist auffallend, dass die Epidemie im ganzen auf Hamburg beschränkt blieb, und dass die Massenflucht aus Hamburg zu keinen Epidemien an anderen Orten führte.

Nun wird von allen Forschern, auch von den Kontagionisten, anerkannt, dass die Disposition des Menschen bei der Entstehung einer Choleraepidemie eine grosse Rolle spielt.

Hat doch Koch auf der 19. Versammlung des deutschen Vereins für öffentliche Gesundheitspflege in Magdeburg am 21. September 1894 Folgendes gesagt:

„Wir sind also alle darüber einig, dass ein ganz bestimmt charakterisierter Parasit die Ursache der Cholera ist. Wenn ich das so kurzweg sage, dann meine ich damit durchaus nicht, dass, wenn jemand diesen Parasit in seinen Mund oder in seinen Magen oder selbst in seinen Darm bringt, er dann unter allen Umständen sofort einen ganz

gleichmässig beschaffenen schweren Choleraanfall bekommen muss u. s. w.“

Für die grosse Bedeutung der individuellen Disposition sprechen besonders auch zweifellos alle Fälle von Cholerainfektion beim Menschen durch — teils unabsichtliche, teils absichtlich vorgenommene — Einverleibung künstlicher Reinkultur der Choleravibrionen in den Verdauungskanal.

Der erste dieser Fälle (Deutsch. med. Wochenschr. 1885 Nr. 37 A p. 7) betraf einen Arzt, welcher an einem der ersten von Koch abgehaltenen Cholerakurse teilnahm. — Weitere Fälle sind die von v. Pettenkofer und von Emmerich (Münch. med. Wochenschr. 1892 Nr. 46), welche sich den Infektionsstoff absichtlich beibrachten.

Einen vierten Fall haben Freymuth und Lickfett publiziert (Deutsch. med. Wochenschr. 1893 Nr. 19) u. v. a. Zum Teil wurden die Kulturen in grosser Menge eingenommen. Nur ein Fall (Emmerich) hat zu einer ziemlich schweren Erkrankung mit folgender Genesung geführt.

Hasterlik hat von einer Choleraleiche Reinkulturen von Choleraspirillen angelegt und hiervon Menschen eingegeben; diese wie alle übrigen Versuche sind ohne wesentliche Erkrankung in Genesung ausgegangen.

Welches Ende hätten aber derartige Infektionen wohl gehabt, wenn die betreffenden Menschen gleichzeitig das Hamburger Leitungswasser, namentlich zur Zeit des abnorm niedrigen Wasserstandes, genossen hätten?

Durch solche Zustände der Wasserversorgung, wie sie in unbegreiflicher Weise noch bei Ausbruch der schweren Sommerepidemie in Hamburg existierten, werden dem Körper durch das Trinkwasser schon bei normalem Wasserstande, geschweige denn bei auffallend niedrigem, die mannigfaltigsten Zersetzungsprodukte der Fäulnis, die verschiedensten Ptomaine und andere durch Bakterien erzeugte Giftstoffe zugeführt.

Das Verdienst, zuerst auf das Vorkommen giftiger Fäulnisbasen aufmerksam gemacht zu haben, gebührt Panum; dann haben Bergmann und Schmiedeberg, Zuelzer und Sonnenschein, Hager, Otto, Selmi, Hauser u. a. aus faulenden Substraten giftige Extrakte gewonnen. Später haben Gautier und Etard aus gefaulten Fischen zwei giftige Substanzen isoliert. Mit ausserordentlichem Erfolge hat Brieger das Studium der Ptomaine in Angriff genommen: seinen Untersuchungen verdanken wir bereits eine Reihe der wichtigsten Resultate u. s. w.

Man kann sich nun wohl vorstellen, dass der Genuss eines mit Fäulnis- und Fäkalstoffen gesättigten Wassers nicht gleichgültig ist, vielmehr für Erkrankungen der Verdauungsorgane prädisponierend wirken muss, so dass auch vereinzelte Choleraspirillen, die in den Körper gelangen, unter solchen Umständen sich schnell vermehren und ihre Virulenz erhöhen.

Denn dass das Hamburger Leitungswasser lebensfähige Cholerakeime enthalten haben muss, ist, obwohl nicht nachgewiesen, nicht zu bezweifeln, da täglich neue Erkrankungen vorkamen, und die Cholerastühle eben immer wieder das Wasser infizierten.

Es ist daher wohl die Annahme gerechtfertigt, dass das Leitungswasser als solches eine Massendisposition zu Darmkrankheiten überhaupt schaffte, so dass selbst spärliche, mit den damaligen Methoden gar nicht nachweisbare Choleraspirillen genügten, um eine schnelle und heftige Erkrankung gleichzeitig bei vielen Menschen herbeizuführen.

Hierin liegt wohl einer der wichtigsten Faktoren, durch den das explosionsartige Auftreten der Choleraepidemie in Hamburg im Jahre 1892 zu erklären ist.

Zum Schluss sei es mir gestattet, auch an dieser Stelle Herrn Professor Dr. Hauser für die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung vorstehender Arbeit meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Am 16. Februar 1867 in Essen a. d. Ruhr als Sohn des Bierbrauereibesitzers Heinr. Arens geboren, besuchte ich, Carl Franz Johann Arens, katholischer Konfession, in meiner Vaterstadt vom 6. Jahre an zuerst die Volksschule und dann das kgl. Gymnasium bis zur wissenschaftlichen Befähigung zum einjährig-freiwilligen Militärdienst. Am 1. Oktober 1885 trat ich in die Lehre einer Apotheke zu Essen, bestand nach drei Jahren in Düsseldorf das Apothekergehilfenexamen und war noch drei Jahre zu meiner weiteren Ausbildung in verschiedenen Apotheken thätig. Das Universitätsstudium begann ich in München im W.-S. 1891/92 und setzte dasselbe in Erlangen fort, wo ich bei Beginn des S.-S. 1893 das pharmazeutische Staatsexamen beendigte. Im W.-S. 1893/94 studierte ich in München, bezog dann wieder für zwei Semester die Universität Erlangen und führte dort vorstehende Arbeit aus, auf deren Grund ich am 6. März 1895 promovierte.



